

Hevylite® : un nouvel outil d'exploration des gammopathies monoclonales de faible fréquence.



COUPRIE N.¹, CHAPUIS-CELLIER C.², KOLOPP-SARDA M.N.², LECUELLE C.¹, PELLEGRINA L.¹, CHEVALIER B.¹
¹ Département d'Hématologie, Biomnis, 69357 Lyon ; ² Laboratoire d'Immunologie, Centre de Biologie Sud, 69495 Pierre-Bénite

INTRODUCTION

Dans le panel des tests explorant les composants monoclonaux sériques, sont apparus en 2009 les dosages des paires de chaînes lourdes et légères d'immunoglobulines : IgGκ/IgGλ, IgAκ/IgAλ et IgMκ/IgMλ. Le but de ce travail a été d'appliquer ces dosages à des gammopathies monoclonales de faible fréquence, les maladies des chaînes lourdes gamma (MCLG) et alpha

(MCLA) qui sont caractérisées par la présence d'une chaîne lourde gamma (CLG) ou alpha (CLA) sans chaînes légères kappa ou lambda associées. Il s'agissait donc de vérifier l'existence d'une différence significative entre le dosage de l'immunoglobuline totale, IgG (IgG_T) ou IgA (IgA_T), et la somme des concentrations IgGκ + IgGλ ou IgAκ + IgAλ respectivement.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les CLG et CLA sériques ont été détectées au cours du travail de routine d'électrophorèse capillaire (Paragon CZE 2000®, Beckman, ou Capillarys 2®, Sebia), immunoelectrophorèse (IEP) et/ou immunofixation (IF) (SAS III®, Elitech ou Hydrasis®, Sebia). La présence de chaînes lourdes gamma ou alpha isolées a été authentifiée par immunosélection (IS) selon la technique de Radl (Radl J., Immunology 1970, 19 : 137-149). Cette technique consiste à réaliser une IEP dans un gel d'agarose contenant des anti-sérums anti-kappa et anti-lambda. Toutes les Ig entières sont sélectionnées au cours de la phase électrophorétique sous forme d'un précipité central. Les CLG ou CLA, non précipitées par les anti-chaînes légères, migrent comme dans une EP classique et apparaissent sous forme d'un arc au cours de la deuxième étape de double immunodiffusion.

Les IgG_T et IgA_T ont été dosées sur Cobas 6000®, Roche. Les dosages des paires IgGκ/IgGλ et IgAκ/IgAλ ont été réalisés à l'aide des trousseaux Hevylite® sur SPA Plus®, The Binding Site. 12 échantillons sériques ont été testés : 3 sérums itératifs contenant une CLA et 9 sérums renfermant une CLG issus de 7 patients différents (2 prélèvements à des temps différents pour 2 patients). Les dosages des paires de chaînes lourdes et légères (IgGκ/IgGλ et IgAκ/IgAλ) et des Ig totales (IgG_T et IgA_T) ont permis de calculer les rapports R (%) = (IgGκ + IgGλ) x 100 / IgG_T et (IgAκ + IgAλ) x 100 / IgA_T. Ces rapports ont été comparés aux rapports obtenus dans une population de donneurs de sang (Bradwell AR et al, Clin Chem. 2009, 55(9) : 1646-55) (R') et une population de gammopathies monoclonales à IgG et IgA (Chapuis-Cellier C, 1^{ère} rencontre Biologie-Clinique, 31.03.2011) (R'').

RÉSULTATS

L'ensemble des résultats est regroupé dans le **tableau I**. Les profils électrophorétiques d'IF et/ou d'IEP et d'IS des patients LE Ch et FR Su sont représentés dans les **figures 1 et 2**. Les rapports r (IgAκ/IgAλ), obtenus dans les trois sérums (n° 1 à 3) de la patiente LE Ch, permettent de mettre en évidence la présence d'une gammopathie monoclonale à IgA entière malgré la présence de la CLA : valeurs de 213, 19 et 22 respectivement, alors que les valeurs de référence sont de 0,78 - 1,94.

Pour 11 sérums sur 12, il y avait suspicion de MCLG ou MCLA, suite à l'IEP ou l'IF ; dans ces 11 cas (sérums n° 1 à 10 et 12), l'IS avait confirmé la présence d'une CLG ou d'une CLA. Dans 10 cas (sérums n° 1 à 10), le rapport R, compris entre 9 et 81 %, était évocateur de la CLG ou de la CLA, comparativement aux rapports R' (84 à 95 %) et R'' (87 à 144 %) (**tableau II**). Les 2 cas pour lesquels les rapports étaient de 91 % et 105 % concernaient respectivement le patient GU Ch dont la CLG avait disparu à l'IS (sérum n° 11) et le patient OL An (sérum n° 12) dont la CLG présente à l'IS était quantitativement faible par rapport à la concentration des IgG_T estimées à 22,7 g/L.

Figure 1 : sérums de LE Ch n°1, 2 et 3

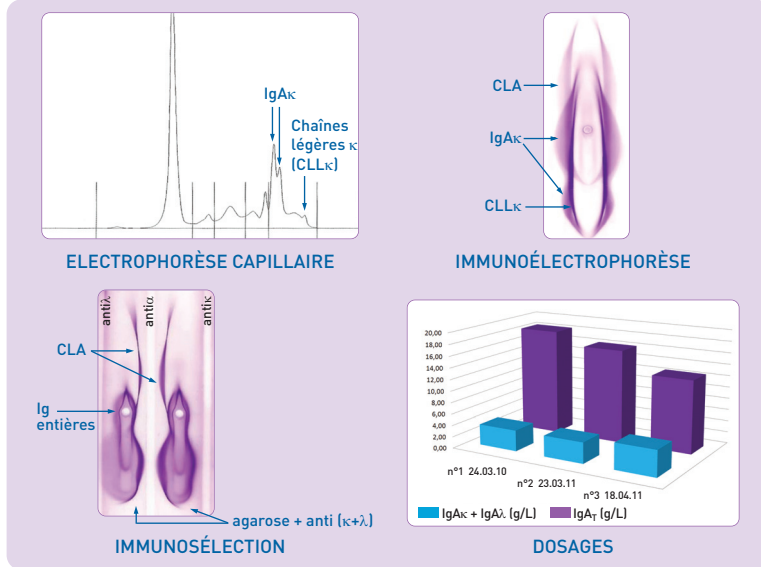


Figure 2 : sérum de FR Su n°8

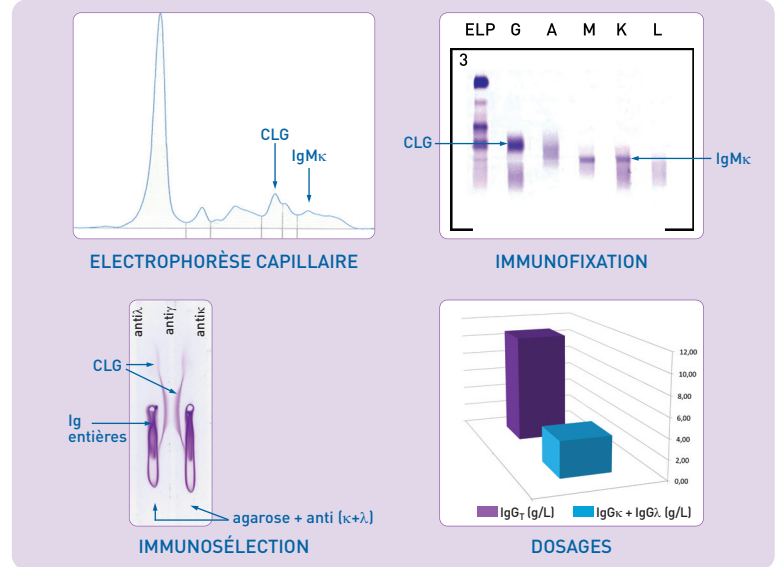


Tableau I

sérum n°	patient / âge	date prélèvement	pathologie(s)	résultat IS	IgAκ (g/L)	IgAλ (g/L)	IgAκ + IgAλ mesurées (g/L)	IgA _T mesurées (g/L)	rapport R (%) (Aκ+Aλ)x100 / A _T	rapport r Aκ / Aλ
1	LE Ch / 74 ans	24.03.10		CLA	3,624	0,017	3,641	18,40	20	213,18
2	LE Ch / 75 ans	23.03.11	MM à IgAκ + CLLκ	CLA	3,465	0,186	3,651	16,31	22	18,63
3	LE Ch / 75 ans	18.04.11		CLA	4,35	0,202	4,552	12,72	36	21,53
					IgGκ (g/L)	IgGλ (g/L)	IgGκ + IgGλ mesurées (g/L)	IgG _T mesurées (g/L)	rapport R (%) (Gκ+Gλ)x100 / G _T	rapport r Gκ / Gλ
4	PL Ge / 79 ans	11.04.11	LLC	CLG	0,665	0,313	0,978	9,75	10	2,12
5	SA Je / 58 ans	27.04.11	suite greffe LMC->LMA	CLG	3,445	5,003	8,448	10,44	81	0,69
6	MA JL / 57 ans	08.03.11	suite greffe MM CLLκ	CLG	0,559	0,317	0,876	9,39	9	1,76
7	MA JL / 57 ans	21.04.11	suite greffe MM CLLκ	CLG	1,301	0,802	2,103	14,54	14	1,62
8	FR Su / 85 ans	19.02.11	GMSI à IgMκ	CLG	2,156	1,46	3,616	10,94	33	1,48
9	FO Ma / 75 ans	26.02.11	GMSI à CLG	CLG	2,779	1,205	3,984	6,32	63	2,31
10	GU Ch / 51 ans	02.09.10	suite greffe LDGC stade 4	CLG	0,816	0,509	1,325	2,72	49	1,60
11	GU Ch / 51 ans	09.06.11	suite greffe LDGC stade 4	0	0,962	0,555	1,517	1,66	91	1,73
12	OL An / 75 ans	28.06.11	Vaquez	CLG	16,133	7,611	23,744	22,68	105	2,12

Tableau II

IgAκ + IgAλ théorique* (g/L)	R' (%) théorique	IgGκ + IgGλ théorique* (g/L)	R'' (%) théorique
17,469	95	20,828	113
15,463	95	18,328	112
12,017	94	14,033	110
IgGκ + IgGλ théorique* (g/L)	R' (%) théorique	IgAκ + IgAλ théorique* (g/L)	R'' (%) théorique
9,165	94	9,025	93
9,828	94	9,590	92
8,820	94	8,730	93
13,764	95	12,951	89
10,308	94	10,000	91
5,873	93	6,213	98
2,417	89	3,262	120
1,399	84	2,393	144
21,578	95	19,623	87

* d'après les droites de corrélation d'AR. Bradwell pour les IgA et les IgG
 § d'après les droites de corrélation de C. Chapuis-Cellier pour les IgA et les IgG

CONCLUSION

Les dosages des paires IgGκ/IgGλ et IgAκ/IgAλ permettent donc dans la plupart des cas une confirmation technique rapide d'une MCLG ou d'une MCLA, dont la preuve ne pouvait être apportée jusqu'à présent que par la technique manuelle d'IS. Compte tenu des résultats obtenus dans des populations normales ou de gammopathies à Ig entières, les données présentées montrent que l'on peut affirmer la présence d'une CLG ou d'une CLA pour un rapport R inférieur à 81 %.